



EFFECTO ANTITUMORAL DE UNA VACUNA DE ADN QUE CODIFICA ANTÍGENOS DEL VPH FLANQUEADOS POR SEÑALES DE ENVÍO Y RETENCIÓN EN RETÍCULO ENDOPLÁSMICO

José Juan Pérez Trujillo^{1*}; Rodolfo Garza Morales¹; Aracely García García¹; Humberto Rocha Rodríguez¹; Jaime García Juárez¹; Juan Carlos Segoviano Ramírez^{1,3}; Odila Saucedo Cárdenas^{1,2}; Roberto Montes de Oca Luna¹; María de Jesús Loera Arias¹.

¹Departamento de Histología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL); C.P. 64460 Monterrey, N.L., México. ²División de Genética, Centro de Investigación Biomédica del Noreste, Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS); C.P. 64720 Monterrey, N.L., México. ³Unidad de Bioimagen del Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud (CIDICS) C.P. 64460 Monterrey, N.L., México.* josejuan2886@hotmail.com

Palabras clave: retículo endoplásmico, envío de antígenos, vacunas ADN.

Introducción. : En los últimos años se han planteado distintas estrategias para la mejora de la respuesta inmune antitumoral, donde destacan dos de ellas. Estas son la fusión de antígenos a la proteína calreticulina de conejo (1) o humano (2), y el envío dirigido de antígenos al retículo endoplásmico (3). Sin embargo, a la fecha no existen reportes que comparen el efecto antitumoral entre estas estrategias. En este trabajo el objetivo es comparar el efecto antitumoral de vacunas de ADN que codifican los antígenos E6 y E7 del VPH-16 fusionados a señales para su envío y retención en retículo endoplásmico, o a calreticulina.

Metodología. Se mandaron sintetizar secuencias que codifican las proteínas rCRT/E7, hCRT/E6m/E7m, y SP/E6m/E7m/KDEL; éstas se subclonaron bajo el promotor de CMV. Se verificó la expresión y localización de las proteínas recombinantes en la línea celular HEK293 mediante western blot e inmunofluorescencia. Posteriormente se analizó el efecto antitumoral en ratones de la cepa C57BL/6 a los cuales se les inyectó la línea tumoral TC-1 por vía intravenosa. Siete días después fueron inmunizados con las vacunas de ADN mediante biobalística en el área abdominal. El crecimiento tumoral fue analizado al día 25 tras el implante. Los resultados se analizaron con el paquete estadístico Prism Graphpad.

Resultados. Se observó por inmunofluorescencia y microscopía confocal que ambas estrategias dirigen la expresión de los antígenos al retículo endoplásmico (Fig.1). Tras realizar la inmunización terapéutica en los murinos, estos fueron sacrificados y se determinó que existe una reducción similar de focos tumorales entre los tratamientos (Fig. 2). Así también se analizó la producción de IFN γ por esplenocitos específicos al antígeno E7, donde obtuvimos que la producción es muy similar entre los tratamientos, indicándonos una participación en el efecto antitumoral. Además, se realizaron análisis de la morfología de los focos tumorales donde se observaron alteraciones en la organización e integridad de los focos tumorales entre los grupos, sugiriendo una posible regresión tumoral.

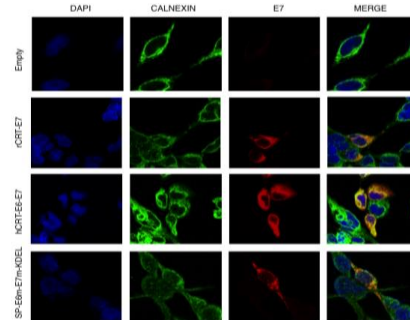


Figura 1.- Detección por inmunofluorescencia de la localización celular de las proteínas recombinantes.

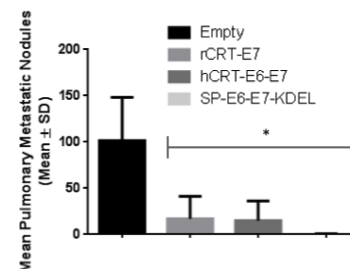


Figura 2.- Conteo de focos tumorales presentes en pulmones de murinos C57BL/6 entre los tratamientos

Conclusiones. La fusión de los antígenos a las señales de envío y retención en retículo endoplásmico muestra un efecto antitumoral similar a la fusión de estos antígenos con calreticulina.

Agradecimiento. Agradecemos el apoyo a Conacyt CB-158509, y Paicyt No. C5959-11.

Bibliografía.

- (1) Rangel-Colmenero BR, Gomez-Gutierrez JG, Villatoro-Hernández J, Zavala-Flores LM, Quistián-Martínez D, Rojas-Martínez A, Arce-Mendoza AY, Guzmán-López S, Montes-de-Oca-Luna R, Saucedo-Cárdenas O. 2014. *Viral Immunol*; Nov;27(9):463-7.
- (2) Peng S, Song L, Knoff J, Wang JW, Chang YN, Hannaman D, Wu TC, Alvarez RD, Roden RB, Hung CF. 2014. *Cell Biosci*;4:11
- (3) Loera-Arias MJ, Martínez-Pérez AG, Barrera-Hernández A, Ibarra-Obregón ER, González-Saldivar G, Martínez-Ortega JI, Rosas-Taraco A, Villanueva-Olivo A, Esparza-González SC, Villatoro-Hernandez J, Saucedo-Cárdenas O, Montes-de-Oca-Luna R. 2010. *J Cell Mol Med*;14:890-894